Note über das Verhalten des Phloroglucins und einiger verwandter Körper zur verholzten Zellmembran.

Von dem corr. M. **Julius Wiesner.**

Zu den verbreitetsten Stoffen der Pflanzengewebe zählt bekanntlich die sogenannte Holzsubstanz, welche in der Wand der Holzzellen, Gefässe und Markstrahlenzellen fast regelmässig in grösseren Mengen neben Cellulose auftritt, aber auch in anderen Gewebselementen, wenn auch seltener, beobachtet wurde.

Der Nachweis dieser Substanz in der Zellwand gehört zu den am häufigsten vorkommenden Aufgaben der mikrochemischen Untersuchung der Pflanzengewebe.

Bis vor etwa zwölf Jahren konnte dieser Nachweis nicht mit der nöthigen Sicherheit geliefert werden. Man begnügte sich solche Zellen als verholzt anzusehen, welche durch Jodlösung und Schwefelsäure (oder Chlorzinkjodlösung) nicht mehr blau oder violett gefärbt wurden, und die nach ihrer sonstigen äusseren Beschaffenheit verholzt erschienen.

Die erste positive Reaction auf Holzsubstanz habe ich angegeben. Ich überzeugte mich nämlich davon, dass die Salze des Anilins, des Naphtalidins, des Toluidins u. e. a. nicht nur, wie durch Runge und Hofmann lange zur Genüge bekannt war, Fichtenholz intensiv gelb färben, sondern dass jedes Vorkommen der Verholzung im Pflanzengewebe durch Lösungen dieser Körper in befriedigender Weise erkannt werden kann. Ich schlug für die Zwecke des mikrochemischen Nachweises der Holzsubstanz das schwefelsaure Anilin, welches leicht durch den Handel in genügend reinem Zustande erhalten werden kann und das auch im gelösten Zustande jahrelang aufbewahrt, seine Wirkung

auf das Holz nicht verliert, vor, welches Reagens auch in die Pflanzenanatomie Eingang fand.[1]

Kürzlich hat Herr Dr. v. Höhnel eine neue und höchst interessante Reaction auf Holzsubstanz aufgefunden.[2] Er zeigte nämlich, dass ein wässeriges oder weingeistiges, aus Kirschholz bereitetes Extract mit verholztem Gewebe zusammengebracht, nach Befeuchtung des letzteren mit Salzsäure (verdünnte Schwefelsäure, Salpetersäure, Phosphorsäure etc. thun denselben Dienst) eine violette Farbe hervorrufen. Dr. v. Höhnel hat den chemischen Charakter dieses Körpers nicht näher verfolgt und gab letzterem den Namen Xylophilin. Dasselbe soll mit Salzsäure zusammengebracht, selbst schon eine violette Färbung annehmen und in Pflanzengeweben ungemein verbreitet sein. Der Autor fand in mehr als 60 Percent der untersuchten Holzgewächse und in etwa 30 Percent der in dieser Hinsicht geprüften krautigen Gewächse Xylophilin vor.

Es schien mir interessant zu erfahren, was für ein Körper das Xylophilin ist. Erstlich um die Reaction auf Holzsubstanz mehr in der Gewalt zu haben — denn das Kirschholzextract ist ein bräunlich gefärbtes Gemenge höchst verschiedener Körper, welche in manchen Fällen die Reaction auf Holzsubstanz zu modificiren vermöchten —; zweitens schien es mir vom histochemischen Gesichtspunkte aus werth, nachzusehen, welcher Körper es ist, der nach den Untersuchungen des genannten Beobachters eine so weite Verbreitung im Pflanzenreiche aufweist.

Der Anhaltspunkte zur Identificirung des Xylophilins mit anderen Körpern waren nur wenige. Da ich mich nicht zu überzeugen vermochte, dass das Xylophilin mit Salzsäure eine schwach gefärbte violette Verbindung gibt, so blieb zur Auffindung nichts übrig, als das Verhalten gegen die verholzte Zellwand und die Löslichkeit im Wasser und Alkohol.

---

[1] Vgl. über Verwendung dieses Reagens: Wiesner, in Karsten's Botan. Unters. 1866. I. pag. 120 und Burgerstein, Unters. über das Vorkommen und die Entstehung des Holzstoffes in den Geweben der Pflanzen. Diese Berichte Bd. LXX. (1874.) Vgl. übrigens auch Sach's, Arbeiten des botan. Institutes, etc. Bd. II. Heft 1, (1878), p. 150.

[2] Sitzungsanzeiger der kais. Akad. d. Wissensch. 1877, Nr. 23, (8. Nov. 1877), p. 228—229.

Trotz eingehender Benutzung der chemischen Literatur wurde ich doch auf keine Substanz geleitet, welche das Holz bei Gegenwart von Salzsäure violett färbt. Die Löslichkeitsverhältnisse liessen zu viele Möglichkeiten offen, als dass selbe für die Auffindung des fraglichen Körpers hätten in Betracht gezogen werden können.

So lenkte ich mein Augenmerk auf eine Reihe verbreiteter Glycoside, namentlich auf das in den Amygdaleen so häufig und in nicht unerheblicher Menge auftretende Phlorizin, welches allerdings reichlich nur in der Wurzelrinde des Kirsch- und Pflaumenbaumes, aber doch auch bestimmt von Dr. Koninck[1] im Holze der Zweige dieser Bäume aufgefunden wurde.

Ich wurde bei der zeitraubenden Arbeit, die genannte Glycoside und deren Spaltungsproducte, beziehungsweise deren fernere Spaltungsproducte, in ihrem Verhalten zur verholzten Zellmembran zu prüfen, von Herrn H. Ambronn, welcher sich im pflanzenphysiologischen Institute schon seit längerer Zeit mit vergleichenden Untersuchungen der Holzsubstanz- und Cellulosereactionen beschäftigt, auf das kräftigste unterstützt.

Es stellte sich nun bei diesen mit grosser Sorgfalt ausgeführten Untersuchungen heraus, dass das Phloroglucin dieselbe Reaction, nur in viel ausgesprochenerer Weise zeigt, wie das aus Kirschholz dargestellte Xylophilinextract. Es wurde eine 0·9 proc. Phloroglucinlösung mit dem Xylophilinextract, dessen Gehalt an dem fraglichen Xylophilin natürlich nicht ermittelt werden konnte, verglichen.

Fichtenholz mit der genannten Phloroglucinlösung zusammengebracht, färbte auf Zusatz von einem Tropfen Salzsäure dasselbe sofort intensiv rothviolett. Xylophilinextract gab eine etwas schwächere Färbung. Die Farbe war fast genau dieselbe, nur gab sich bei genauem Vergleiche in der Xylophilinreaction ein etwas stärkerer blauer Ton zu erkennen, was namentlich deutlicher wurde, wenn die gefärbten Fichtenholzstücke trocken geworden waren.

Diese Beobachtung machte es schon einigermassen wahrscheinlich, dass das Xylophilin mit Phloroglucin identisch ist.

[1] Siehe Husemann, Pflanzenstoffe p. 709.

Folgende Reaction hat dies bestätigt:

Herr Professor P. Weselsky[1] hat vor einigen Jahren eine sehr empfindliche Reaction auf Phloroglucin angegeben. Eine Lösung, in welcher nur 0·05 Proc. Phloroglucin enthalten ist, gibt mit salpetrigsaurem Kali und salpetersaurem Toluidin zusammengebracht, nach einiger Zeit einen zinnoberrothen Niederschlag, dessen Bildung eine Farbenänderung der Flüssigkeit von Gelb durch Orange in Dunkelorange unter Eintritt einer Trübung vorangeht.

Das mit Wasser verdünnte Xylophilinextract gab genau dieselbe Reaction. Die Weselsky'sche Reaction zeigt aber nicht allein Phloroglucin als solches, sondern dasselbe auch an, wenn es an Protocatechusäure gebunden erscheint; gibt also auch mit einer Maclurinlösung (oder selbst mit wässerigem Gelbholzextracte) dieselbe Reaction.

Wird nun Gelbholz mit Salzsäure befeuchtet, so tritt die Färbung nicht ein. Die genannte Reaction charakterisirt mithin das freie Phloroglucin und dürfte desshalb, wie ich glaube, auch den Chemikern zur Auffindung dieses Körpers gute Dienste leisten. Doch muss diess der Beurtheilung der Chemiker überlassen bleiben.

In Bezug auf die Empfindlichkeit der genannten Phloroglucinreaction theile ich folgende Beobachtungen mit.

Eine 0·95 procentige Lösung, welche wie bemerkt, die Reaction sofort und in prachtvollster Weise hervorruft, wurde so weit verdünnt, bis ein mit der Lösung befeuchtetes Fichtenholz nach Zufügung von Salzsäure sofort noch die rothviolette Färbung erkennen lässt. Die Lösung enthielt in diesem Falle noch etwa 0·01 Proc. Phloroglucin. Aber noch in Lösungen, welche 0·005 Proc. des genannten Körpers enthielten, konnte mittelst Fichtenholz seine Gegenwart constatirt werden. Die Reaction trat aber erst nach 5 Minuten merklich hervor. Sie lässt sich bedeutend verstärken, wenn man einen dünnen Holzspan durch 1—2 Stunden in der phloroglucinhaltigen Flüssigkeit liegen lässt und dann erst Salzsäure hinzufügt. Die äusserste Grenze der Reac-

[1] Berichte der deutschen chem. Gesellschaft. Bd. VIII (1875), p. 967 Bd. IX (1876), Nr. 3.

tion fand ich erreicht in einer 0·001-proc. Lösung. Doch musste, damit die Gegenwart des Phloroglucins erwiesen werden konnte, der Holzspan einige Stunden in der Lösung liegen gelassen werden. Nach Zufügung der Salzsäure trat die Rothfärbung nicht sofort, sondern erst ein, nachdem der Holzspan trocken geworden war. Ich benutzte zu diesem Versuche sehr dünne Hobelspäne, welche 4 Stunden nach Einwirkung der Salzsäure deutlich violettroth geworden waren.

Aus diesen Mittheilungen ergibt sich, dass das Phloroglucin ein höchst empfindliches Reagens auf Holzsubstanz ist und dass auch verholzte Gewebe, bei Anwendung von Salzsäure, als höchst empfindliches Reagens auf freies Phloroglucin dienen können.

Nach der Auffindung der Holzstoffreaction war es ein naheliegender Gedanke, auch Pyrogallussäure, Resorcin und Brenzcatechin in ihrem Verhalten zu verholzten Geweben zu prüfen.[1]

Ich fand, dass die erstere selbst in concentrirten Lösungen auf Fichtenholz nach Zusatz von Salzsäure nur eine sehr schwache, leicht zu übersehende Farbenreaction hervorruft. Fichtenholz und überhaupt verholzte Gewebe werden nämlich durch Salzsäure gelblich und, wie ich früher auffand, darauf grün. Befeuchtet man einen Fichtenspahn mit einer concentrirten Pyrogallussäure-Lösung, so erscheint vorübergehend eine gelbliche Färbung, später eine grünliche. Vergleicht man die durch Pyrogallussäure und Salzsäure hervorgerufene Färbung mit der, welche Salzsäure allein hervorruft, so erkennt man, dass erstere rascher eintritt, etwas lebhafter ist und einen deutlichen Stich in's Blaue zeigt. Nach dem Austrocknen ist der mit Pyrogallussäure und Salzsäure behandelte Span taubengrau, der mit Salzsäure allein behandelte aber grünlichgelb bis gelb. Die taubengraue Färbung ist, selbst wenn der Span früher in Pyrogallussäure lange (20—24 Stunden) liegen gelassen wurde, so schwach, dass sie im Mikroskope kaum mehr erkenntlich ist, so dass diese Reaction zur mikrochemischen Nachweisung von etwa in den Geweben vorkommender Pyrogallussäure nicht gut benützt werden könnte.

---

[1] Hydrochinon stand mir für den Versuch nicht zu Gebote, so dass ich dasselbe nicht in den Vergleich einbeziehen konnte.

Hingegen färben Lösungen von Brenzcatechin oder Resorcin das Holz nach Zufügung von Salzsäure blau mit einem Stich in's Violette. Die erzielten Färbungen sind nicht so intensiv wie die durch Phloroglucin hervorgebrachte. Über die Empfindlichkeit dieser Reaction, welche sich zur mikroskopischen Nachweisung dieser Körper in den Pflanzengeweben eignen dürfte, wird später eingehender berichtet werden.

Es sei mir schliesslich gestattet, auf das Xylophilin nochmals zurückzukommen.

Ich habe schon oben angeführt, dass die Xylophilinreaction auf Holz im Wesentlichen mit der des Phloroglucins übereinstimmt, aber bei genauerer Betrachtung sich doch dadurch von ihr unterscheidet, dass das Holz einen stärkeren Stich in's Blaue erkennen lässt. Dies lenkte mich auf die Vermuthung, dass in dem Xylophilinextract möglicherweise etwas Brenzcatechin oder Resorcin oder beide vorhanden sind. Durch Behandlung des Kirschholzextrates mit Eisenchlorid und kohlensaurem Natron liess sich in der That die Gegenwart des Brenzcatechins nachweisen. Es ist also das Xylophilin als ein Gemenge von viel Phloroglucin mit etwas Brenzcatechin anzusehen; im Xylophilinextract aber treten natürlich noch zahlreiche andere Körper neben den beiden genannten auf. Mit Bestimmtheit konnte ich auf Grund der überaus empfindlichen Baeyer'schen Phtalsäure- und der Barth'schen in zugeschmolzenen Röhren erfolgenden Salzsäurereaction die Abwesenheit des Resorcins im Xylophilinextract constatiren.

Die weite Verbreitung des Phloroglucins im Pflanzenreiche, welche sich aus Dr. v. Höhnel's Beobachtungen über das Vorkommen von sogenanntem Xylophilin ergibt, ist als eine Bestätigung der Beobachtungen des Herrn Th. v. Weinzierl anzusehen, welcher vor etwa zwei Jahren im pflanzenphysiologischen Institute sich mit der Nachweisung des Phloroglucins im Gewächsreiche beschäftigte, und auf Grund der Weselsky'schen Reaction von dem häufigen Vorkommen dieses Körpers sich überzeugte.[1]

---

[1] Th. v. Weinzierl, Über die Verbreitung des Phloroglucins im Pflanzenreiche. Oest. bot. Zeitschrift 1876, p. 285—204.

Die auf Zusatz von Salzsäure in verholzten Zellen so häufig auftretenden violetten Färbungen kommen nach Dr. v. Höhnel dadurch zu Stande, dass das Xylophilin aus dem Zellinhalt in die verholzte Zellmembran aufgenommen wurde und nunmehr durch Einwirkung von Salzsäure die Xylophilinreaction hervorruft.

Ich kenne diese Reaction sehr genau und habe derselben gelegentlich vor langer Zeit schon erwähnt; so unter Anderm in einer gemeinschaftlich mit A. Weiss ausgeführten Arbeit über die directe Nachweisung des Eisens in der Pflanze.[1]

Ich entsinne mich nun genau, dass die Färbungen, welche die mit Salzsäure behandelten verholzten Zellen annehmen, zwischen Roth (welches eben der durch Phloroglucin im Holze hervorgerufenen Farbe entspricht) und Blau (etwa entsprechend der durch Brenzcatechin oder Resorcin im Holze hervorgerufenen Färbung) liegen, und hege die Vermuthung, dass diese Reaction theils von Phloroglucin, theils von Brenzcatechin oder einem Gemenge beider herrührt. Auch Resorcin ist hierbei nicht auszuschliessen.

Herr Dr. v. Höhnel hat nun die Reaction, welche er im verholzten Gewebe durch Salzsäure erhielt, benützt, um das Xylophilin in den Geweben aufzufinden. Es ist nach den im pflanzenphysiologischen Institute hierüber angestellten Versuchen nicht zu bezweifeln, dass die Pflanzen, welche von Herrn Dr. v. Höhnel als xylophilinführende bezeichnet werden, theils solche sind, welche Phloroglucin, theils solche, welche Brenzcatechin enthalten. In vielen Fällen kommen zweifellos beide gemengt im Gewebe vor. Die Gegenwart von Resorcin in den Pflanzen, welche als xylophilinhaltig bezeichnet werden, ist noch zweifelhaft. Der Nachweis des Vorkommens der hier genannten chemischen Individuen in den Geweben der Pflanzen wird im pflanzenphysiologischen Institute genauer weiter verfolgt und ich werde mir seinerzeit erlauben, der hohen Classe die diesbezüglichen Resultate bekannt zu geben.

[1] Siehe diese Berichte, Bd. XL, p. 276.